

MÉTODO PARA TRATAMENTO DE TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA E TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA PARA USO COMO IMPLANTE EM CORPO HUMANO OU ANIMAL

5 A invenção se refere a um método para o tratamento do tecido biológico de origem animal e humana, tal como válvulas do coração suíno, válvulas do coração do pericárdio bovino ou válvulas do coração de cadáveres humanos, e o tecido biológico tratado dessa forma.

10 No que diz respeito ao fundamento da invenção deve ser indicado que os métodos de operação com uma aplicação do tecido biológico pré-tratado diferentemente de origem animal, como matrizes de colágeno, em particular no desenvolvimento da engenharia de tecido, estão ganhando importância em várias áreas cirúrgicas para métodos de terapia futuros melhorados. As áreas de aplicação relevantes devem ser consideradas na cirurgia cardiovascular, mas a ortopedia e a neurocirurgia também são concebíveis como áreas de uso.

15 Para a aplicação de matrizes de colágeno na cirurgia cardiovascular, a boa compatibilidade do sangue e a estabilidade mecânica têm que ser asseguradas. Como um exemplo, neste contexto, as válvulas de coração de origem animal, tais como válvulas suínas ou válvulas do pericárdio bovino devem ser mencionadas apenas tanto quanto prótese de vaso biológicas com pequenos diâmetros e câmaras de bomba de bombas de sangue biológicas ou mecânicas. Em 20 tratamentos cirúrgicos ortopédicos, as matrizes de colágeno estáveis especialmente são de interesse particular para a substituição de cartilagem, de ligamentos e de tendões. Na neurocirurgia, finalmente, um tecido de colágeno para fechar o crânio, por exemplo, depois de operações de tumor deve ser 25 considerado como uma área de uso da presente invenção.

Os problemas especiais, nos quais a invenção é baseada, serão esclarecidos a partir do exemplo de substituição de válvulas do coração. Assim, da substituição das válvulas do coração implantadas em mais de 200.000 pacientes por ano em todo mundo aproximadamente 50% são feitas de válvulas 30 de coração artificiais, mecânicas e 50% de implantes biológicos baseados em válvulas de coração suíno e em válvulas do pericárdio bovino. A implantação de válvulas de coração mecânicas, para cuidados posteriores permanentes, exige a administração de medicamentos de inibição de coagulação sanguínea, para evitar embolismos provenientes das próteses. Assim, pacientes atendidos desse modo 35 se tornam virtualmente "hemofílicos artificiais".

As válvulas de coração biológicas de origem animal têm o problema que

têm que ser tratadas com o glutaraldeído para conseguir a estabilidade a longo prazo. Devido aos grupos de aldeído livres sendo assim produzidas a partir do glutardialdeído, as válvulas de coração biológicas têm um efeito tóxico por si mesmas e podem conseqüentemente não ser colonizadas com células. Uma colonização de célula deve tornar estas bioválvulas duráveis por significativamente mais tempo. Entretanto, uma desintoxicação seria necessária antes de uma colonização de célula. Estudos médicos são conhecidos neste contexto a partir da técnica anterior, em que substâncias que ligam grupos de aldeído livre são usadas. Referência é feita neste contexto às seguintes referências da literatura:

Gott J.P., Chih P., Dorsey L., Jay J.L., Jett G.K., Schoen F.J., Girardot J.M., Guyton R.A. "Calcification of porcine valves: a successful new method of antimineralisation" in *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 207-216; Jones M., Eidbo E.E., Hilbert S.L., Ferrans V.J., Clarck R.E. "Anticalcification treatments of bioprosthetic heart valves: in vivo studies in sheep" in *J Cardiovasc Surg* 1989; 4: 69-73; Grabenwöger M., Sider J., Fitzal F., Zelenka C., Windberger U., Grimm M. "Impact of glutaraldehyde on calcification of pericardial bioprosthetic heart valve material" in *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 772-7 and finally Webb C.L., Benedict J.J., Schoen F.J., Linden J.A., Levy R.J. "Inhibition of bioprosthetic valve calcification with aminodiphosphonate covalently bound material to residual aldehyde groups" in *Ann Thorac Surg* 1988; 46: 309-16.

Além disso, testes foram realizados para conseguir uma desintoxicação com a ajuda do ácido cítrico. Isto era parcialmente bem sucedido como descrito em Gulbins H., Goldemund A., Anderson I., Haas U., Uhlig A., Meiser B., Reichart B. "Preseeding with autologous fibroblasts improves endothelialisation of glutaraldehyde-fixed porcine aortic valves" in *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 125: 592-601.

Os graus de desintoxicação conseguidos foram meramente 20 a 30%.

Com uma desintoxicação apropriada do tecido fixo com glutaraldeído e a revestibilidade correspondente pelo próprio tecido do corpo depois que a implantação – chamada de "endotelialização" - é possível conseguir o objetivo de uma válvula de coração que poderia durar para a vida toda sem a administração de medicamentos para inibir a coagulação de sangue.

Um exemplo adicional do escopo da presente invenção é a prótese de vaso de diâmetro pequeno. Os implantes deste tipo geralmente são feitos atualmente de material plástico, a saber, PTFE ou PET. Eles têm comparativamente uma taxa

de fechamento elevada, em particular em na aplicação deles como uma substituição de vaso para vasos periféricos da perna, desvios aortocoronários e derivações periféricas da diálise. As consequências dos fechamentos de vasos nestas regiões da prótese são drásticas, incluindo amputação da perna, infarto do miocárdico resultando em morte ou a necessidade de uma revisão da derivação. Aqui, também, o tecido biológico fixos com glutaraldeído de pequeno calibre de origem animal sob a forma de vasos doadores suínos, bovinos ou de cabra poderia trazer uma melhoria substancial se o tecido deste tipo pudesse ser desintoxicado e endotelializado, ou endotelializado na circulação sanguínea. Na aplicação de bombas musculares, também, complicações de trombose poderiam ser evitadas se os componentes que entram em contato com o sangue pudessem ser aumentados no que diz respeito a sua biocompatibilidade, por exemplo, com medidas de desintoxicação apropriadas.

Áreas de aplicação adicionais do tecido biológico deste tipo sob a forma de matrizes de colágeno de origem animal podem ser tecidos biológicos fixos com glutaraldeído e desintoxicados estáveis e biocompatíveis para o tratamento da osteoartrite das juntas do quadril, joelho e tornozelo. Além disso, aplicações adicionais para fechar o crânio após ferimentos ou operações de tumor com a ajuda de um pericárdio bovino desintoxicado e fixos com glutaraldeído correspondentemente como uma aplicação protetora do cérebro são igualmente concebíveis como aplicações, por exemplo, na cirurgia do tórax como a substituição da parede do tórax ou do diafragma, na cirurgia abdominal para a substituição da parede abdominal ou na área ENT como uma substituição do tímpano.

Com respeito aos problemas esboçados da técnica anterior, a invenção é baseada no objeto de descrever um método para tratar o tecido de colágeno de origem animal ou humana e de um tecido biológico tratado correspondentemente, a biocompatibilidade e a estabilidade a longo prazo do tecido sendo aumentadas de tal maneira que o tempo de uso do tecido no corpo pode ser drasticamente aumentado - no caso ótimo até a capacidade para o uso permanente.

O conceito básico da invenção fornece um tratamento do plasma físico do tecido biológico para resolver estes problemas.

Os testes mostraram que devido a este tratamento do plasma físico, no qual os gases usados são excitados e radicalizados e que neutraliza quimicamente a toxicidade por causa dos grupos de aldeído livre produzidos por causa da fixação do glutaraldeído, uma desintoxicação significativamente

melhorada pode conseqüentemente ser conseguida comparada à técnica anterior como uma primeira etapa para melhorar as propriedades de implantação do tecido. Os testes mencionados produziram um grau de desintoxicação de mais de 80%. Uma superfície de endotélio fechada poderia assim ser colonizada nas
5 faces de contato do sangue do tecido de teste.

O processo químico que ocorre basicamente durante o tratamento do plasma pode ser brevemente resumido usando o exemplo do oxigênio do gás de processo. Assim os componentes presentes no plasma, a saber, íons de oxigênio e dióxido de carbono em forma de oxigênio excitado e água na reação com os
10 hidrocarbonetos na superfície do tecido. Esta reação pode assim ser usada para remover os grupos de aldeído, presentes nas superfícies do tecido, tais como são produzidos através da fixação do glutaraldeído, no sentido de uma desintoxicação.

As condições preferidas do método para o método do gás do plasma usado
15 são dadas a seguir, onde o oxigênio é usado preferivelmente como o gás excitado. Nitrogênio, hidrogênio e argônio também podem, entretanto, ser usados. A entrada de energia para a produção do plasma é executada vantajosamente por um campo eletromagnético de alta frequência, em particular um campo de microonda.

Os métodos do gás de plasma acima ocorrem geralmente pela introdução
20 do gás a ser ionizado em uma câmara de tratamento evacuada. Além disso, também é possível realizar o tratamento do plasma com um plasma atmosférico usando um jato de plasma com gás de reação excitado sob condições atmosféricas. O jato de plasma é guiado sobre a superfície do implante, assim a
25 purificação do local ocorre. Isto ocorre naquele íon de oxigênio presente no gás de reação que sofre uma reação com hidrocarbonetos e a superfície do tecido e forma dióxido de carbono e a água.

Enquanto, no tratamento de plasma sob condições atmosféricas, um pré-
condicionamento sob a forma de uma secagem do tecido já não é necessária, e
30 conseqüentemente até o tecido úmido em seu estado original pode ser diretamente tratado, para o tratamento do tecido biológico com o método do gás de plasma mencionado no princípio em uma câmara de tratamento, é muito vantajoso para o resultado da desintoxicação se os tecidos biológicos geralmente
35 aquosos forem sujeitos antes ao tratamento de plasma a uma secagem, em particular pela influência de um vácuo e de uma temperatura.

O tecido biológico é mantido conseqüentemente completamente livre de

água para a duração do tratamento.

A umidade é fornecida ao tecido sujeito ao tratamento do plasma para o uso da implantação, que é colocado no líquido, por exemplo. Esta então recupera sua consistência original e é, por exemplo, permanentemente resiliente e estável a longo prazo em uma execução correspondente como uma válvula de coração suíno.

Um desenvolvimento particularmente preferido do método de acordo com a invenção é dado a seguir, de acordo com que as quais o tecido sujeito ao tratamento do plasma é fornecido com um revestimento contendo metal biocompatível. Este revestimento é um componente biocompatível adicional nas superfícies do implante, que por um período de tempo prolongado promove o crescimento da célula.

O método de escolha para a implementação do revestimento contendo metal é um método de PACVD, que, no revestimento de superfícies de material plástico em implantes médicos artificiais, já atingiu resultados convincentes em relação à biocompatibilidade das superfícies tratadas com este. Este revestimento contendo metal é selecionado do grupo de metais consistindo em Ti, Ta, Nb, Zr, Hf, Ir, Au, Pd, Pt, Ag e Cu. Neste contexto, o titânio se mostrou particularmente bem sucedido e tem sido usado por muito tempo como um material particularmente biocompatível em muitos tipos de aplicações de implante. Os materiais de revestimento também mencionados, prata e cobre, podem adicionalmente ou exclusivamente ser introduzidos no revestimento como reagentes antibacterianos.

A presente invenção se refere ao tecido biológico de origem animal ou humana, tal como pode ser usado como um implante em um corpo humano ou animal. De acordo com a presente invenção, pelo menos a superfície que pode ser posta em contato com o corpo é sujeita a um tratamento de plasma, de acordo com a invenção, para desintoxicação. A biocompatibilidade é melhorada - como descrito acima - por um revestimento contendo metal biocompatível no tecido biológico. O tecido biológico é preferivelmente uma válvula de coração, prótese de vaso, face de contato do sangue das bombas de sangue mecânicas ou biomecânicas, inserto de fechamento para aberturas do crânio, cartilagem, osso, tendão, diafragma, parede do tórax, parede abdominal ou substituição do tímpano.

A seguinte descrição descreve a invenção mais detidamente em uma modalidade:

Uma válvula de coração suíno é usada como um exemplo de um tecido de colágeno de origem animal, que deve ser usada como um implante em um corpo humano.

Esta é preparada, descelularizada e fixa com glutaraldeído após a remoção do animal doador para a estabilização em uma maneira convencional. Neste caso, a válvula é trazida em uma solução de glutaraldeído entre 0,1 e 0,4% e fixada em uma solução fluindo em baixas pressões de 3 a 6 mm de 24 a 48 horas.

A válvula de coração suíno preparada desse modo é seca então lentamente sob um vácuo e com a fonte da temperatura e assim desidratada completamente.

Depois disso, um tratamento do plasma da válvula do coração suíno é realizado em uma câmara de tratamento. Para esta finalidade, a câmara de tratamento é completamente evacuada e o oxigênio é então introduzido. Um plasma é inflamado pela entrada de um campo eletromagnético de alta frequência de, por exemplo, 40 kHz ou 13,56 MHz ou pela excitação com microondas. O gás de oxigênio presente na câmara de tratamento é excitado e radicalizado pela fonte de energia conectada a esta.

Este gás do plasma atua nos grupos de hidrocarboneto C_xH_y na superfície do implante fixo com glutaraldeído de acordo com a seguinte equação da reação:



Como pode ser visto, os hidrocarbonetos na superfície do implante, como, por exemplo, acetaldeídos são convertidos nos compostos químicos comparativamente inofensivos, dióxido de carbono e água, que podem facilmente ser removidos da superfície do implante.

O tratamento do plasma acima é continuado então para aplicar o revestimento contendo metal na superfície do implante. Para esta finalidade, um precursor gasoso é alimentado na câmara do revestimento e separado sob a influência da energia do plasma em seus componentes atômicos. Os íons assim sendo produzidos se acomodam na superfície. Tipicamente, o titânio é aplicado primariamente como revestimento contendo metal com a ajuda do método de PACVD. O método como descrito em detalhe, além disso, no EP 0 897 997 B1 usando o exemplo do revestimento de um substrato de material plástico.

A pressão do reator para o pré-tratamento e para o revestimento está entre 0,1 e 1030 mbar. Ao aplicar um plasma, a pressão deve idealmente ser > 50 mbar. Para o pré-tratamento, o gás de trabalho (por exemplo, oxigênio) é introduzido no reator em um fluxo de volume de gás de 0,04 NI/min. Após a

estabilização da pressão final a aproximadamente 1 mbar, a entrada do plasma capacitiva ocorre em uma potência de 20 W para uma duração de 60 segundos. A fonte de gás é interrompida então e a câmara do reator é evacuada completamente. O gás de portador (hidrogênio) é guiado para o revestimento
5 seguinte em um fluxo de volume de gás de 0,09 NI/min sobre o precursor $\text{Ti}[\text{N}(\text{CH}_3)_2]_4$ e introduzido na câmara de revestimento. A duração do revestimento é de aproximadamente 300 segundos com uma potência do plasma ajustada de 20 W. A fonte de gás é interrompida então outra vez e a câmara de revestimento ventilada.

10 Após este tratamento de vácuo para o carregamento de plasma e revestimento das válvulas do coração suíno, estas são colocadas outra vez no líquido, assim elas recuperam sua consistência original devido ao líquido fornecido.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratamento de tecido biológico de origem animal ou humana, tal como o válvulas do coração suíno, do pericárdio bovino ou de cadáveres humanos, para aumentar a biocompatibilidade, **caracterizado** pelo fato
5 de ser um tratamento físico do plasma do tecido.
2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que nitrogênio, hidrogênio, argônio ou preferivelmente oxigênio é usado como o gás ionizado em um método de gás de plasma como o tratamento do plasma.
3. Método, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato
10 de que a entrada de energia para a produção do plasma ocorre por meio de um campo eletromagnético de alta frequência, em particular um campo de microonda.
4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento de plasma ocorre com um plasma atmosférico usando um jato de plasma sob condições atmosféricas.
- 15 5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que o tecido é seco antes do tratamento por meio do método de gás do plasma.
6. Método, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que a secagem ocorre por meio da influência de um vácuo e de uma
20 temperatura.
7. Método, de acordo com a reivindicação 5 ou 6, **caracterizado** pelo fato de que a umidade é fornecida ao implante seco após o tratamento do plasma.
8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizado** pelo fato de que o tecido sujeito ao tratamento do
25 plasma é fornecido com um revestimento contendo metal biocompatível.
9. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de que o revestimento contendo metal é aplicado por meio de um método de PACVD.
10. Método, de acordo com a reivindicação 8 ou 9, **caracterizado** pelo
30 fato de que o revestimento contendo metal é selecionado do grupo consistindo em Ti, Ta, Nb, Zr, Hf, Ir, Au, Pd, Pt, Ag e Cu.
11. Tecido biológico de origem animal ou humana para uso como implante em corpo humano ou animal, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos sua superfície que pode ser posta em contato com o corpo é sujeita a um
35 tratamento de plasma para desintoxicação.
12. Tecido biológico, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado**

pelo fato de que a superfície tratada por plasma é fornecida com um revestimento contendo metal biocompatível.

13. Tecido biológico, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que o revestimento contendo metal é selecionado do grupo consistindo em Ti, Ta, Nb, Zr, Hf, Ir, Au, Pd, Pt, Ag e Cu.

14. Tecido biológico, de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 13, **caracterizado** pelo fato de que é configurado como uma válvula de coração, prótese de vaso, face de contato do sangue de bombas de sangue mecânicas ou biomecânicas, a inserto de fechamento para aberturas cranianas, ou substituição de cartilagem, de osso, de tendões, de diafragma, da parede do tórax, da parede abdominal ou do tímpano.

MÉTODO PARA TRATAMENTO DE TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA E TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA PARA USO COMO IMPLANTE EM CORPO HUMANO OU ANIMAL

- 5 Um método para tratar o tecido biológico estabilizado glutardialdeído de origem animal ou humana, tal como válvulas de coração suíno, do pericárdio bovino ou de cadáveres humanos, fornece um tratamento de plasma físico, em particular, tecido de colágeno para aumentar a biocompatibilidade, colonização de célula e durabilidade do mesmo.